Aus der Kinderklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. H. Rietschel

Über die Bedeutung der Ascorbinsäure im Harn nach Bestimmung ihrer Reduktionskraft, und über den C-Vitamin-Stoffwechsel

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Edith Augustin

aus Hamburg

Würzburg, Januar 1939

Buchdruckerei Richard Mayr

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät.

Berichterstatter:
Prof. Dr. med. H. Rietschel

R UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner lieben Mutter
in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549802_0162

I.

Über die Bedeutung der Ascorbinsäure.

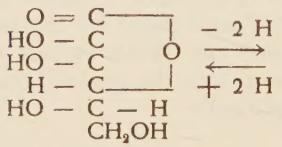
Die Bedeutung der Vitamine für die menschliche Krankheitslehre ist in den letzten Jahren oft genug hervorgehoben worden, und die Wertschätzung dieser für den gesamten Stoffwechselchemismus anscheinend zu bedeutsamen Faktoren ist mehr und mehr im Steigen begriffen. Mit keinem Vitamin aber hat sich die Wissenschaft so intensiv beschäftigt, wie mit dem C-Vitamin, das die erste Totalsynthese eines Vitamins darstellt (Szent Györgyi).

Biologisches und Chemisches:

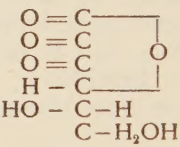
Nach den bekannten Untersuchungen von Giroud und Leblond über den histologischen Nachweis der Ascorbinsäure enthält so gut wie jede Zelle Vitamin C. Viele Gewebe wurden bisher als frei von Vitamin-C angesehen, was jedoch nur für den Ruhezustand gilt. Sobald eine Zelle arbeitet, ist es wahrscheinlich, daß Vitamin-C, oder andere reduzierende Substanzen vorhanden sind. Zum Beispiel ist die Markzone der Nebennieren in der Ruhe frei von Vitamin-C, zeigt aber nach Reizung eine starke Aufladung mit C, das in Form feinster Granula den Zellkern umgibt (Bourne), während sich nun die Rinde als ziemlich verarmt an C erweist. Die Leber ist sehr reich an C; dann folgen in absteigender Reihe: Niere, Knochenmark, Milz, Herz und Muskel. Prozentual hat die Nebenniere den höchsten C-Gehalt. Nach Melka sind die hypertrophischen Tonsillen sehr C-reich. Der C-Gehalt eines Organs richtet sich nach seiner augenblicklichen Leistung, und das im Blute in reversibel oxydierter Form vorhandene Vitamin wird dem augenblicklichen Bedarf der Zelle entsprechend aufgenommen. Die C-Vorräte des Körpers sind dabei anscheinend recht gering. Auch durch vermehrte, den Bedarf überschreitende Zufuhr von C gelingt es nicht, irgendwelche Leistungssteigerungen zu erreichen. Das Vitamin C hat die Aufgabe als Wasserstoffüberträger zwischen den organischen Stoffwechsel-Bausteinen zu dienen. Es besitzt anscheinend eine regulierende Wirkung auf die oxydoreduzierenden

Prozesse, und es ist in der Tat eine Substanz von starkem Redoxpotential, dessen Erhaltung für die Lebensvorgänge des Stoffwechsels von größter Bedeutung ist. Seine Fähigkeit Oxydations-Reduktionssysteme zu bilden, läßt den Schluß zu, daß es vielleicht mit der Adrenalinsynthese in der Nebenniere verbunden ist und es scheint für die Existenz des lebenden Protoplasmas wesentlich mit der Protoplasma-Atmung verbunden zu sein. (Bourne). Nach King dient es nicht nur als Wasserstoff- und Sauerstoffüberträger mit Hilfe des Oxydasesystems, sondern reguliert auch den kolloidalen Zustand der Interzellularsubstanzen, eine Beziehung, die die groben Gewebsveränderungen beim Skorbut erklärt. Der Aufbau der Ascorbinsäure entspricht nachfolgender Formel:

Gewöhnliche Laktonform:



Reversibel oxydierte Form:



Das Vitamin-C gilt als eine Verbindung der Zuckerreihe und steht den Traubenzuckern nahe. Die reine Substanz ist ein weißes, feinkristallines Pulver, das sich leicht mit stark saurer Reaktion in Wasser löst, während die Löslichkeit in Alkohol, Äther, also organischen Lösungsmitteln, geringer ist. Der Schmelzpunkt liegt bei 192°.

Im Organismus wird die Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure oxydiert. (Moll, Wieters). Nach Neuweiler verliert das Vitamin durch Oxydation an Aktivität, während von anderer Seite (Borsook,, Davenport, Deffreys und Warner) behauptet wird, daß die Wirksamkeit von Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure dieselbe ist, gleichgültig, ob per os oder subcutan zugeführt. Nach Tillmans erfolgt die Oxydation in zwei Stufen. Es gibt eine erste Oxydationsstufe, die seine Vitamineigenschaften noch nicht vernichtet. Erst durch weiter erfolgende Oxydation der noch antiskorbutisch wirksamen Form geht die antiskorbutische Eigenschaft verloren, was bereits durch Stehen an der Luft geschehen kann. In wässeriger Lösung soll die Dehydroascorbinsäure weniger haltbar sein als die Ascorbinsäure. Sie wird in wenigen Stunden weitgehend zerstört, und diese Zerstörung wird beschleunigt durch hohe Temperaturen, stark saure oder alkalische Reaktion, gleichgültig, ob Sauerstoff, Stickstoff oder Kohlensäure anwesend sind.

Verhindert wird die Oxydation des Vitamin-C im Gewebe durch die Wirkung des Glutathions nach de Caro, Emmerie und

Giani. Beide Stoffe nehmen gleichzeitig ab in den Nebennieren von Kaninchen, welche C-arme Kost erhalten. Daraus schließt man, daß im lebenden Organismus die Ascorbinsäure durch das Glutathion geschützt wird.

Die oxydationskatalytische Wirkung wird stark gehemmt durch Blausäure und fast vollständig aufgehoben durch Kupfer. Die Umwandlung der Ascorbinsäure in Dehydroascorbinsäure ist reversibel und darauf beruht die biologische Wirksamkeit. Die Rückreduktion kann durch H_2S erfolgen, in vivo wahrscheinlich durch Glutathion. Sie erfolgt nicht im Blut, wie später noch hervorgehoben wird. Im Kohl, Blumenkohl, Gurke und Kürbis ist ein Enzym enthalten, das Ascorbinsäure oxydiert, aber zum Beispiel nicht in Äpfeln und Kartoffeln. Doch können in diesen Pflanzen die Phenolasen bei Vorhandensein von Catechol die Ascorbinsäure oxydieren. Die oxydative Wirkung der angeführten Planzensäfte ist sehr verschieden. In vitro geht eine indirekte Oxydation durch Peroxydase vor sich. Zwei oxydative Enzymsysteme stehen in Verbindung mit dem Vitamin-C, die Hexuronsäureoxydase von Szent Györgyi in der Nebenniere und in den Kohlblättern, und das oxydative Enzym von Tauber und Klein, das das Vitamin mit dem freien Sauerstoff reagieren läßt. Diese beiden Systeme sind im aktiven Gewebe höherer Planzen weit verbreitet. Auch Urin besitzt die Fähigkeit, Ascorbinsäure zu oxydieren nach Gabbe, Ferrand und Policard. Zerstört wird das Vitamin durch Licht auch bei Sauerstoffmangel und durch Hitze (Watson). In der Milch erfolgt die Inaktivierung nicht durch Erwärmen, sondern durch Oxydation. Diese wird verhindert durch Milchfett, das die Milch vor Einwirkung des Luftsauerstoffes schützt. — Mit Phenylhydrazin bildet Dehydroascorbinsäure Osazone, und von Hinsberg und Ammon gelang es, C-Osazone aus dem Harn zu isolieren. Das antiskorbutische Vitamin ist für höhere Pflanzen ein unentbehrlicher Wachstumsfaktor. Von Hausen führte durch C-Zusatz zu sterilen Kulturen von Saaterbsen, Klee und Weizen eine Wachstumsbeschleunigung vor dem Blühen herbei. Nach dem Blühen war das Vitamin nicht mehr von Einfluß. Während zum Beispiel die meisten Erbsenpflanzen nach dem Entfernen der Kotyledonen kaum noch wuchsen, kamen die durch Vitamin-C behandelten zur voller Blüte.

Über die Synthese der Ascorbinsäure.

Über die C-Synthese im Tierorganismus gilt folgendes: Die Ratte ist nach Gugewa, Waldmann, v. Euler, Brosemer, Scheunert, King und anderen, besonders befähigt zur C-Synthese die nach Stepp in der Leber erfolgt. In Leber und Nebenniere erwies sich der C-Gehalt als konstant, unabhängig von der

Ernährung. Die Fähigkeit des C-Vitamin-Aufbaues schützt die Ratte vor dem Skorbut. Bei Verfütterung von Lebern vitamin-C-frei ernährter Ratten konnten Meerschweinchen vor Skorbut geschützt werden. Von den übrigen Tieren sollen noch Hunde, Geflügel, besonders Kücken, Brosemer, Gugewa und Waldmann) und Kaninchen (Hanke) befähigt sein, das Vitamin selbst aufzubauen. Nach v. Euler soll das embryonale Meerschweinchengewebe und das Ovarialgewebe von erwachsenen, nichtträchtigen Affen das C-Vitamin aus Mannose bilden können. King verwirft die Selbstsynthese bei Meerschweinchen. Bourne erklärt allgemein nur solche Tiere fähig zur Selbstsynthese, deren entwicklungsgeschichtliche Herkunft in gemäßigten Zonen liegt, während diejenigen tropischer Herkunft die Fähigkeit nicht mehr besitzen; eine sehr einleuchtende Erklärung.

Die C-Bildung beim Foetus ist umstritten. Nach Bentivoglio geht das Vitamin von der Mutter auf die Frucht über. (Bezssonoff, Röhmer und Sanders progagierten dagegen die Selbstsynthese bei Säuglingen bis zu 6 Monaten. Diese soll im Gehirn stattfinden. Sie untersuchten bei diesen die C-Ausscheidung im Urin mit ihrer eigenen Methode und fanden einen Anstieg in der Ausscheidungskurve trotz Vitaminmangel in der Diät. Bei älteren Säuglingen trat regelmäßig mit Aufhören der Vitaminzufuhr ein plötzliches Absinken der Vitamin-C-Ausscheidung auf. „Die Autoren Bezssonoff und Röhmer glauben, daß der Säugling im Gegensatz zu dem erwachsenen Menschen im späteren Alter in der Lage ist, das Vitamin aus der ihm angebotenen Nahrung synthetisieren zu können, wie dieses beim Hund sicher und bei der Katze und Kuh wahrscheinlich anzunehmen ist. Andere Autoren nehmen an, daß das Neugeborene bei der Geburt ein ausreichendes C-Depot mitbekommt, so daß der Säugling bei mangelhafter C-Zufuhr keinen Schaden nimmt, da er seinen Bedarf aus diesen Depots in den ersten Lebensmonaten decken kann". (Ley). (Kl. Wschr. 1937 II S. 1425).

Wacholder kommt zu den Schluß, daß die Fähigkeit zur C-Synthese für den Säugling abgelehnt werden muß, und daß auch trotz der Annahme großer C-Depots infolge großen Bedarfs an Vitamin-C in der Säuglingsperiode bei unzureichender Ernährung bald die Gefahr eines Mangels eintreten kann. Es ist bekannt, daß die Organe des Neugeborenen einen erheblichen Gehalt an Vitamin C besitzen; aber ob dieser Gehalt einer reinen Stapelung gleichkommt, ist nicht geklärt. Die Anreicherung kann ja auch mit der funktionellen Beanspruchung zusammenhängen. Auch sind diese Mengen im Vergleich mit der geringen Größe der Organe sehr klein, wenn man sie mit dem Bedarf des Säuglings an Vitamin C vergleicht, der heute mit 10—15 mg. tgl. angegeben wird. In neue-

ster Zeit wird jedoch wieder von Jezler auf die Möglichkeit einer Selbstsynthese hingewiesen: „Ganz wollen wir aber das Vorkommen von Ascorbinsäureaufbau im menschlichen Organismus nicht in Abrede stellen. In einem menschlichen Organ scheint dieser tatsächlich vorzukommen. Ich denke dabei nicht an das Corpus luteum, für welches Tronci des hohen Gehalts wegen eine lokale Synthese angenommen hat, ohne aber irgend einen Beleg dafür anzuführen; auch nicht an die Thymusdrüse, obwohl dieser nach japanischen Autoren eine große antiskorbutische Wirkung zukommt (Thymektomie beschleunigt das Auftreten der C-Avitaminose), sondern an die Tonsillen". (Jezler, Kl. Wschr. 1938 II S. 1792).

Die C-Synthese kann aus Mannose, wie schon erwähnt, aus Sorbit und Rohrzucker vor sich gehen. Die Bildung aus Mannose jedoch soll im Tierkörper wirksamer sein, als die aus anderen Hexosen (King). Guha und Gosch deuten darauf hin, daß Organe in vitro und in vivo aus Mannose und Glucose Vitamin-C bilden können. Sie injizierten Ratten-Mannose und Glucose und fanden einen Anstieg des C-Gehalts der Organe.

Nach Melka besitzt das Tonsillengewebe des Menschen die Fähigkeit, aus Kohlehydraten Ascorbinsäure zu bilden, allerdings nicht in vitro. „Aus unseren Versuchen geht hervor, daß die Zugabe von Glucose, Maltose, Laktose und Saccharose zum überlebenden, in physiologischer- und Ringerlösung auspendierten Tonsillengewebe in der Mehrzahl der Versuche eine Erhöhung des Ascorbinsäure-Gehalts verursacht. Diese Ergebnisse sind umso wichtiger und interessanter, als es nicht gelungen ist, die synthetische Fähigkeit der Gewebe von Lebewesen, die mit Bestimmtheit einer solchen Synthese fähig sind, in vitro nachzuweisen". (Melka, Kl. Wschr. 1937 II S. 1218).

Die Ergebnisse dieser Versuche stützten in letzter Zeit wieder den Gedanken der Selbstsynthese des Vitamin-C beim Menschen und haben wohl auch Jezler veranlaßt, sowie auch Rietschel, die Möglichkeit einer Selbstsynthese, nicht nur beim Neugeborenen, (Bezssonoff, Röhmer), sondern beim Menschen jeden Alters in Betracht zu ziehen.

Nachweis der Ascorbinsäure.

Alle bisher gefundenen Tatsachen und aufgestellten Synthesen stützen sich zur Hauptsache auf die qualitative und quantitative Bestimmung der Ascorbinsäure in Organen und Körpersäften. Alle bisher angegebenen Bestimmungsmethoden und Nachweise der Ascorbinsäure gründen sich auf ihre hervorstechendste chemische Eigenschaft, nämlich ihr starkes Reduktionsvermögen, welches durch die beiden Carbonylgruppen an der Doppelbindung bedingt

ist. Diese Reduktion wird nach den bisherigen Angaben einiger Autoren (Tillmans, Harris, Ray, Johnson, Zilva, Benjamin und Hess, sowie v. Eekelen, Emmerie, Josephy und Wolff) durch Titration entweder direkt, oder nach Ausschaltung störender, reduzierender Begleitstoffe gegen Indophenol, Silbernitrat, Jod, Phosphorwolfram-Molybdänsäure und andere Reagenzien bestimmt. Die gefundenen Werte werden auf Grund bekannter Beziehungen auf Ascorbinsäure umgerechnet.

Die erste Methode wurde von Tillmans angegeben und benutzt als Redoxindicator 2—6-Dichlorphenolindophenol. Dieses wird durch die zu bestimmende Substanz zu einer farblosen Leukoverbindung reduziert. Der Grenzpunkt wird durch einen roten Farbumschlag in saurem Milieu charakterisiert. Der Vorgang geht chemisch so vor sich, daß beim Behandeln mit den obengenannten Oxydationsmitteln unter Abgabe zweier Wasserstoffatome die Dehydroascorbinsäure entsteht von der Bruttoformel: $C_6H_6O_6$. Die Umsetzung entspricht der Reaktionsgleichung: $C_6H_8O_6 - H_2 \rightleftarrows C_6H_6O_6 + H_2O$. Es laufen also nach den Angaben von Tillmans und Mitarbeitern unter den gewählten Versuchsbedingungen Reduktionskraft und Vitamingehalt des organischen Materials parallel, und es wäre eine genaue Bestimmung der Ascorbinsäure möglich, wenn nicht zahlreiche Ballaststoffe und störende, reduzierende Begleitstoffe (Glutathion, Cystein, Acetessigsäure, Ergothionein, Thiosulfat etc.) miterfaßt würden; und zwar werden umso mehr reduzierende Substanzen erfaßt, wie Oxydationsmittel benutzt werden, die ein Redoxpotential haben, das über dem der Ascorbinsäure liegt.

Ein solches Mittel ist zum Beispiel das Jod. Dieses ist daher wenig geeignet zum Nachweis. Genaue und eindeutige Ascorbinsäurewerte lassen sich in keinem der bisher angegebenen Bestimmungsverfahren erhalten und die Reduktion von Indophenol, Silbernitrat, Jod usw. ist somit nicht spezifisch für das Vorhandensein von Vitamin C. Eindeutig zu lösen ist die Frage des C-Stoffwechsels wohl erst mit Hilfe einer spezifisch quantitativen Reaktion, die aber noch nicht vorhanden ist, wie später noch begründet wird.

Die größte Zahl der Versuche bisher beschäftigten sich mit dem Ascorbinsäuregehalt des menschlichen Harns, wie die in den letzten Jahren erschienenen Arbeiten beweisen. Das ist begreiflich, ist doch die Kenntnis vom Ascorbinsäuregehalt des Urins von größtem physiologischen und klinischem Interesse im Hinblick auf die klinische Bewertung von Hypovitaminosen und Avitaminosen, und es schien auf diesem Gebiet sowohl für die Ernährungsphysiologie, als auch für die Klinik am ehesten die Möglichkeit zu liegen, den Bedarf des Menschen an C und seine Versorgung damit quantitativ zu erfassen.

Nach Hess und Benjamin tritt das Vitamin C im Urin erst auf, sozusagen als nichtbenötigter Überschuß, wenn zuvor eine reichliche Zufuhr des Vitamins durch die Nahrung erfolgte. Ohne diese Zufuhr finden sich nur geringe Mengen von Ascorbinsäure oder auch nichts davon im Urin vor. „Es ist seit den Untersuchungen von Harris und Ray bekannt, daß der Organismus des Menschen die aufgenommene Ascorbinsäure entsprechend seinem Bedarf speichert und überschüssig zugeführtes Vitamin C im Harn ausscheidet". (Gaehtgens, Kl. Wschr. 1938 I.). Auch Hamel konnte bei C-arm ernährten Personen teilweise überhaupt keine Ausscheidung feststellen, wobei Hamel aber nicht sagen will, daß der normale Urin ganz allgemein kein C enthält. (Kl. Wschr. 1937 II. S. 1105).

Widenbauer sagt dazu folgendes: „Es erscheint wahrscheinlich, daß eine bemerkenswerte C-Ausscheidung im Urin erst nach Auffüllung der Zellen unter großem Überangebot eintritt. Ein derartiges Verhalten wäre physiologisch rationell. Damit wäre der Widerspruch geklärt, daß Hess und Benjamin im Tierversuch keine, v. Eekelen aber Ascorbinsäure im Urin nachweisen konnten, wobei Urin verwendet wurde nach großen Gaben von Apfelsinen". (Kl. Wschr. 1936 II S. 94).

V. Eekelen und Emmerie bekräftigen das. „Nach starkem Genuß von Apfelsinen befindet sich mehr Vitamin C im Urin als im Blut. Es gelang Meerschweinchen durch Urin von Personen, die viel Apfelsinen gegessen hatten, vor Skorbut schützen". (Kl. Wschr. 1934 I S. 564).

Auch nach Jezler und Kapp sinkt die Ausscheidungsquote sofort auf ein niederes Niveau, etwa zweidrittel des Normalen, beim Sinken der C-Zufuhr. Die Tagesverteilung ist deutlich abhängig von der Nahrungszufuhr. Im Hunger wird eine Stundensekretion von konstant 0,5 beibehalten, die reduzierenden Eigenschaften des Urins verschwinden nicht. Die Autoren erheben die Frage einer „endogenen Ausscheidungsquote", teils sind sie der Meinung, daß bei Minimalwerten, wie im Hunger, wahrscheinlich ist, daß nur zum geringen Teil oder überhaupt nicht Vitamin C die Ursache der Reduktion ist. Die rasche Umstellung bei eingeschränkter Zufuhr spricht gegen das Bestehen großer Reserven. (Kl. Wschr. 1936 II S. 976).

In der Arbeit von Lund (Kl. Wschr. 1937 II S. 10) heißt es:

„Ein Beweis dafür, daß normalerweise eine Ascorbinsäure-Ausscheidung im Urin stattfindet, ist niemals erbracht worden".

Wieters hat den C-Gehalt von Harnkonzentraten an Meerschweinchen untersucht; sie waren vollständig ohne antiskorbuti-

sche Wirkung, obgleich sich nach dem Indophenoltiter des Urins beträchtliche Mengen Ascorbinsäure finden sollten.

Bei der Prüfung des Harns von sechs gesunden Personen nach der Methylenblaumethode unter gleichartigen Bedingungen (pH-Wert, Belichtungsintensität, Anwesenheit von Phosphat und Chlorionen) fand sich keine Ascorbinsäure vor. Setzte man aber bekannte Mengen von Ascorbinsäure hinzu, so wurden sie quantitativ austitriert, In denselben Proben ergaben sich mit der Harris-Ray-Technik Ascorbinsäurekonzentrationen von 14—16 mg pro Liter. Nach diesen vorläufigen Ergebnissen muß man damit rechnen, daß die Ascorbinsäure kein normaler, „in jedem Fall aber kein gewöhnlicher Bestandteil des Urins ist". (Lund)

Diese wenigen Angaben über die Ascorbinsäureausscheidung im Urin zeigen, daß in der letzten Zeit Zweifel aufgetaucht sind, hinsichtlich der unbedingten Bejahung dieser Tatsache. Diese kritische Stellungnahme ergibt sich zum Teil auch aus der Unzulänglichkeit aller bisher üblichen Untersuchungsmethoden, auf die im folgenden Teil näher eingegangen wird. Die meisten Autoren halten aber an der Tatsache einer normalen Ascorbinsäureausscheidung im Urin in mehr oder minder hohen Mengen fest und stützen sich auf die Ergebnisse ihrer Untersuchungen, trotzdem allgemein bekannt ist, daß es keine spezifische Methodik zum quantitativen Nachweis gibt bis heute.

Wenn man einen Einblick tut in die Literatur der letzten Zeit hinsichtlich der Bestimmungsmethoden der Ascorbinsäure im Urin, so kann man feststellen, daß die Anzahl der Methoden zwar groß ist, aber bisher keine gefunden wurde, die spezifisch auf Ascorbinsäure wirkt und sichere Schlüsse zuläßt auf die Vitamin C-Bilanz des Organismus.

Es wurde schon gesagt, daß das Oxydationsmittel 2—6 Dichlorphenolindophenol (Tillmans), das auch zur Bestimmung des Vitamins in Nahrungsmitteln erfolgreich benutzt wurde, das am meisten angewandte Titrationsverfahren darstellt. Zilva nahm damals an, daß die Reduktion von Indophenol im Harn durch Ascorbinsäure bedingt war. Diese Vermutung wurde durch große Erhöhung des Reduktionsvermögens des Harns bestätigt, die sich nach Einnahme großer Mengen von Ascorbinsäure ergab. Die biologische und titrimetrische Untersuchung zeigte eine so gute Übereinstimmung, daß damit bewiesen war, daß Ascorbinsäure bei Belastungen mit Vitamin C im Urin ausgeschieden wird. Danach nahm man an, daß das Reduktionsvermögen des Harns der Ausdruck für eine Ascorbinsäureausscheidung wäre. Es ergab sich jedoch nach und nach, daß das Dichlorphenolindophenol auch auf Begleitstoffe im Urin wirkt, die den Indikator langsam reduzieren. Als erste verbesserten Harris und Ray die Methode, indem sie bei niedri-

gem pH-Wert arbeiteten, wobei das Oxydationsmittel weniger auf die störenden Substanzen im Harn wirkt. Dennoch waren die Werte zu hoch, und man war deshalb ständig auf der Suche nach einem Verfahren, das die störenden Reduktone ausschalten sollte, um sichere Ergebnisse zu bekommen. Hierbei entstanden aber die größten Schwierigkeiten.

Nach einem Verfahren von Tauber und Klein wird nach Zerstörung der Ascorbinsäure durch eine besondere Oxydase, die aus dem Blumenkohl gewonnen wird, der übrigbleibende Restreduktionswert festgestellt und vom Original-Tillmanswert abgezogen. Nach Neuweiler wirkt jedoch diese Oxydase nicht spezifisch auf Ascorbinsäure. Es wird damit also nach wie vor nicht klar, wie hoch sich der durch die Unspezifität der Tillmans'schen Methode gemachte Fehler im Gesamtwert der Tagesausscheidung praktisch auswirkt.

Wenn nach Angaben von Harris und Ray die Titration mit Indophenol in einfach angesäuerten Urinen durchgeführt wird, so ergibt sie nur in seltenen Fällen genaue Werte, nämlich nur dann, wenn der Urin ganz klar ist oder sehr viel Ascorbinsäure enthält nach Ferrand und Policard (Kl. Wschr. 1937 I S. 347). Bei großen Ausscheidungenswerten sind die Fehlerquellen unbedeutend. Je geringer die Ausscheidung, umso größer wird der Fehler. Eine starke Färbung läßt den Farbumschlag nicht erkennen und es kommt zur Übertitration. Diese Störung kann vermieden werden durch Verdünnung des Harns mit aqua destillata in gleichbleibenden Mengen. Noch mehr aber kommt als Fehlerquelle in Betracht das Vorhandensein gewisser Mengen von Cystin, Ergothionein und Thiosulfat (v. Eekelen). Gluathion reduziert den Farbstoff nicht in saurem Milieu, während die übrigen auch in saurer Lösung wirksam sind und die Bewertung des Farbumschlages beeinträchtigen. Die langsame Reduktion des Indikators ist abhängig von der Menge der Schwefelverbindungen, die stets variiert und bei der quantitativen Analyse der Ascorbinsäure nicht bestimmt wird. Durch Einhalten der Titrationszeit von längstens 2 Minuten werden zum Teil Reduktone ausgeschaltet, die schwächer als Ascorbinsäure reduzieren (nach Widenbauer).

Als Verbesserung schlagen nun v. Eekelen, Emmerie und Wolff folgendes vor: „Einer von uns hat eine Methode gefunden, um Zystein und Ergothionein (und wahrscheinlich auch andere S- und SH-Verbindungen) von Ascorbinsäure zu trennen durch Ausfällung mit Quecksilberacetat. Die Ascorbinsäure bleibt in reversibel oxydierter Form in Lösung, aus der sie quantitativ durch H_2-Behandlung reduziert zurückgewonnen werden kann. (Kl. Wschr. 1934 I S. 564.).

Dazu sagt Gabbe: „Die Fällung mit Quecksilberacetat wurde von mir bisher vermieden, da ich fand, daß Ascorbinsäure bei

Behandlung mit Schwefelwasserstoff in Gegenwart von Quecksilberacetat ihre Reduktionsvermögen teilweise verliert. (Kl. Wschr. 1934 II S. 1389).

Auch Gaehtgens, ebenso Ammon und v. Hinsberg sind der Meinung, daß durch Rückreduktionen mit H_2S Veränderungen und Zerstörungen des Ascorbinsäuremoleküls vorkommen können. (Kl. Wschr. 1938 I S. 724).

Ferrand und Policard meinen: „Das Reinigungsverfahren von Emmerie und v. Eekelen mit nachfolgender Titration nach Tillmans ist im Verlauf der quantitativen Bestimmung der Ascorbinsäure im Urin unanwendbar, da die Behandlung mit H_2S unter den gegebenen Bedingungen die Bildung von Substanzen nach sich zieht, die zwar verschieden von Ascorbinsäure sind, aber ebenfalls Indophenol reduzieren". (Kl. Wschr. 1937 I S. 347).

Hamel meint dazu: „Durch Zusatz von Zinkstaub (Rückreduktion) erhält man nicht selten wieder höhere Werte, die auf Rückreduktion anderer Substanzen beruhen. Dieses zusätzliche Reduktionsvermögen ging alsbald wieder verloren, ein Beweis dafür, daß es sich nicht um regenerierte Ascorbinsäure handeln konnte". (Kl. Wschr. 1937 I. S. 10).

Zur Ausschaltung störender Substanzen bei der Indophenolmethode benutzte Gabbe das Formol, wie Wacholder und Quensel. Nach dessen Einwirkung soll das Reduktionsvermögen der Ascorbinsäure fast völlig erhalten bleiben. (Kl. Wschr. 1936 II. S. 292).

Betrachtet man die Bestimmungsmethoden, so stellt man fest, daß in allen Fällen von den Autoren die reduzierte Form der im Harn ausgeschiedenen Ascorbinsäure bestimmt wird. Es konnte aber auch bewiesen werden, (Gaehtgens, Gabbe), daß die reversibel oxydierte Form der Ascorbinsäure ebenfalls als Dehydroascorbinsäure im Urin vorhanden ist, da sie ja einen für Oxydations-, als auch Reduktionsprozesse leicht zugänglichen Faktor darstellt und daher in beiden Formen vorhanden sein kann. Die titrimetrische Erfassung der reversibel oxydierten Ascorbinsäure mit Hilfe von Rückreduktionen durch H_2S oder Zinkstaub ist bisher mißlungen, wie aus den vorliegenden Angaben deutlich hervorgeht. Solange aber das Verhältnis dieser beiden Formen zueinander noch unbekannt ist, ist es unmöglich, aus den Reduktionswerten bindende Schlüsse zu ziehen. (Kl. Wschr. 1938 I S. 724).

Ferrand und Policard bestätigen das. „Die Gesamtmenge der Ascorbinsäure wird durch die Tillmans-Methode, modifiziert von Harris und Ray, nicht berücksichtigt, sondern nur der Anteil der reduzierten Ascorbinsäure". (Kl. Wschr. 1937 I S. 347).

Hamel begründet die Unmöglichkeit der Rückreduktion der Ascorbinsäure in die Ursprungsform damit, daß die Oxydation eben keine reversible ist.

Bedenklich ist, daß der Farbumschlag bei den Tillmans-Titrationen meistens unter starkem Ziehen erfolgt. Diese Erscheinung tritt bei reinen Ascorbinsäurelösungen gar nicht auf; auch bei Zusatz von reiner Ascorbinsäure zum Harn erfolgt die Titration glatt. Es taucht also wieder die Frage auf, wie weit die gefundenen Werte auf Ascorbinsäure bezogen werden können. Nach Gabbe führt das im Urin in nennenswerten Mengen festgestellte Thionein zu fehlerhaften Werten, da es auch in saurem Milieu Indophenol reduziert.

In letzter Zeit haben Caffier und Riekhof den Einwand gemacht, daß die Menge der reduzierten Stoffe im Harn in einem bestimmten Verhältnis zur Konzentration des Harns, d. h. seinem spezifischen Gewicht, steht. Die Indophenolmethode muß also nach ihnen zu Fehlschlüssen führen, wenn das spezifische Gewicht des Urins nicht berücksichtigt wird. Die Autoren schlagen vor, bei der Tillmans-Methode immer von demselben spezifischen Gewicht des Harn auszugehen, nämlich von demjenigen von 1020. Bei höherer Konzentration muß der Urin vorher auf das entsprechende spezifische Gewicht von 1020 verdünnt werden.

Nach Gaehtgens und anderen besteht dieses Abhängigkeitsverhältnis der reduzierenden Substanzen zur Konzentration des Urins nicht!

Alle geschilderten Fehlerquellen glaubt Bezssonoff umgehen zu können durch Ablehnung der Farbstofftitration. Er wendet die Monomolybdoposphorwolframsäure an, die in Gegenwart von Vitamin C eine Violettfärbung gibt, durch welche sich letzteres quantitativ bestimmen läßt. Diese chemische Reaktion ist spezifisch für die in der Ascorbinsäure enthaltenen Dienolgruppe -HOC=COH-. Das Dichlorphenolindophenol und das Bezssonoff'sche Reagenz besitzen das gleiche Reduktionspotential, aber andere Stoffe, die keine Endiolen sind, erniedrigen das Potential und entfärbten Indophenol, während sie keine Wirkung auf das Bezssonoff'sche Reagenz haben. Das ist der Fall für die schon erwähnten Sulfhydrylverbindungen (Cystein, Thionein, Glutathion). Es wurde mit dieser Methode im Urin gesunder Tiere Vitamin C nachgewiesen. Bei Tieren, die 2 Tage und länger unter skorbuterzeugender Diät gestanden haben, konnte es im Urin nicht nachgewiesen werden. Von dem Zeitpunkt an fiel der Ascorbinsäure-Gehalt der Nebennieren, Leber und Milz bedeutend bei den hungernden Tieren. Es fanden sich bis zum sechsten Tage noch geringe Mengen Vitamin C im Innern der Organe, in der Linse, sowie in Blut und Liquor vor.

In noch neueren Untersuchungen von v. Euler und Burström ergeben sich allgemein jedoch niedrigere Resultate durch die Indophenolmethode, als durch das angeblich spezifischere Bezssonoff'sche Reagenz. Auch Wacholder zweifelt an der Spezifität desselben.

Noch andere Möglichkeiten benutzen Martini und Bonsignore. Ihre Methode der Ascorbinsäurebestimmung beruht darauf, daß Vitamin C, dem Licht ausgesetzt, sein Redoxpotential in kurzer Zeit nach der negativen Seite hin verändert, besonders bei Vorhandensein gewisser photodynamischer Substanzen. So wird zum Beispiel eine Lösung von Methylenblau durch Ascorbinsäure in saurem Milieu und unter Belichtung rasch in ihre Leukobase überführt, d. h. reduziert, wobei die hinzugesetzte Methylenblaumenge proportional der Ascorbinsäure ist. Die Methode wurde von Ammon und v. Hinsberg, sowie auch Gabbe praktisch angewandt und bemerkenswerte Resultate gefunden. Die Autoren fanden nämlich Werte, die weit unter den mit Indophenol ermittelten lagen. Der Unterschied betrug mehr als das 8fache. Nur fehlen in den Veröffentlichungen lange die Kontrollen mit Zusatz von bestimmten Mengen von Ascorbinsäure zu den betreffenden Flüssigkeiten und Organextrakten, sowie pH-Kontrollen. Bei der endgültigen Prüfung durch genannte Kontrollen ergab sich nach Neuweiler, daß die Unterschiede zwischen der Indophenolmethode und der Methylenblaumethode doch nicht bestanden, beide Methoden ziemlich genau übereinstimmten. Dabei stellte es sich heraus, daß auch dieser Reaktion unbekannte Fehler zugrunde liegen. Einmal entfärbt die gleiche Menge Ascorbinsäure verschiedene Mengen Methylenblau, je nach der Wasserstoffionenkonzentration, und dann veranlaßt eine lange Einwirkung des Lichts noch andere reduzierend wirkende Stoffe zur Entfärbung des Methylenblau. Auch ist in diesem Falle ebenfalls bei dunkelgefärbten Harnen der Entfärbungspunkt kaum genau zu ersehen. Unter gleichartigen Bedingungen (pH-Wert, Belichtungsintensität, Anwesenheit von Phosphat und Chloridionen) besteht ein quantitatives Verhältnis zwischen Methylenblau und Ascorbinsäure nach Lund. (Kl. Wschr. 1937 II S. 1085.) — Lund sagt dazu noch:

„Es zeigte sich im Laufe der Untersuchungen, daß der Urin fast immer Substanzen enthält, die Methylenblau reduzieren und die die Methylenblaureaktion hemmen oder aufheben, selbst nach Zusatz großer Mengen von Ascorbinsäure. Es gelang durch Zusatz von Aethylalkohol, der wie v. Euler und Mitarbeiter zeigen konnten, die Reduktion des Methylenblau durch Fe ++ katalysiert, diese Hemmung auszuschalten."

Andere Verbesserungen der Methode liegen noch nicht vor.

Über die Jodmethode äußern sich Ammon und v. Hinsberg folgendermaßen: „Die Methode, das Jodbindungsvermögen des Urins bei sauerer Reaktion auf Ascorbinsäure zu beziehen, ist fehlerhaft, da es mehrere andere Substanzen gibt, die unter diesen Bedingungen Jod anlagern können. An ihrer Spitze steht das Cystein und Thionein. Die erhaltenen Werte können um mehrere hundert Prozent über den wahren liegen. Durch Zusatz von Kaliumjodid-Lösung wird das Jodbindungsvermögen des Cystein verhindert, aber nicht vollständig aufgehoben. Die anderen reduzierenden Substanzen bleiben unverändert. (Kl. Wschr. 1935 II S. 85.)

Nach Gabbe sind noch viele andere Stoffe mit Jod titrierbar, die nicht mit Indophenol reagieren.

Widenbauer weist darauf hin, daß bei der Titration von reiner Ascorbinsäurelösung mit Jod das Auftreten der ersten Blaufärbung und damit der Schlußpunkt der Titration einwandfrei zu erkennen sei, daß es jedoch bei der Harntitration mehr oder minder dem Experimentator überlassen bleibe, zu welchem Zeitpunkt er die Titration als beendigt betrachte.

Es werden dann noch zweck Ascorbinsäurebestimmung eine Farbreaktion mit Anilin von Roe und eine Farbreaktion mit Eisenchlorid, wobei Rhodankalium als Indikator dient, von Holland in der Literatur angegeben, Methoden, die wenig Anklang gefunden haben; ebenso eine calorimetrische Methode von Fujita, Swatake und Myata (Ascorbinsäure reduziert alkalische Wolframlösung unter Blaufärbung).

Viele Autoren kommen nun zu dem Schluß, daß die ganzen Reduktionsmethoden einen Notbehelf darstellen oder ein Behelfsverfahren, unbrauchbar zur exakten Bestimmung der Normalausscheidung, wobei man es mit kleinsten Werten zu tun hat. Die Versuche, eine rein titrimetrische Methode für Ascorbinsäure im Harn zu finden, sind fast aussichtslos. Andere Autoren wieder gelangen zu einem positiveren Ergebnis, wie Drigalski: „Man wird daran festzuhalten haben, daß die Methoden zwar als mehr oder weniger grob, aber zur vorläufigen Umreißung eines unbekannten Gebietes doch als wertvoll anzusehen sind!" (Kl. Wschr. 1935 I S. 1614.)

Es wird von Ammon und v. Hinsberg darauf hingewiesen, daß eine andere Möglichkeit, die Ascorbinsäure quantitativ zu erfassen, in ihrer chemischen Eigenschaft liegt, mit Phenylhydrazin und 2,4 Dinitrophenylhydrazin, ein sehr schwer lösliches Osazon zu bilden. (Kl. Wschr. II S. 85.)

Kotake und Nishigaki haben als erste diese Verbindung hergestellt und sie Vitaminosazon genannt. Diese Stoffe lassen sich leicht durch Löslichkeitsunterschiede in Natriumkarbonat von den entsprechenden Osazonen trennen und unterscheiden. Eine Fällung der Ascorbinsäure im Urin ist nicht möglich wegen ihrer zu geringen Konzentration. Jedenfalls erhält man mit Phenylhydrazin im ge-

wöhnlichen Urin keinen Niederschlag. Mit 2,4 Dinitro-Phenylhydrazin wird jedoch nach Pi-Suner und Farran ein Niederschlag erzeugt. — Zwei Jahre später findet man die Angabe, daß Ammon und v. Hinsberg bei Versuchen der Kristallisierung des ausgeschiedenen Vitamin C als Osazon feststellten, daß im Urin klinischer Patienten der wahre Gehalt an Ascorbinsäure unter 0,3 mg% liegt. Weitere Versuche werden jetzt in dieser Richtung gemacht. (Kl. Wschr. 1937 II.)

Ein erschwerendes Moment für alle Versuche bildet die geringe Stabilität des Vitamins. Alle Versuche, das Vitamin für einige Zeit zu stabilisieren, sind bisher erfolglos gewesen. Schon in wenigen Stunden beträgt der Verlust an Ascorbinsäure 30%. Die Überschichtung des Harns mit flüssigem Paraffin schützt praktisch nicht. Das Verfahren, den Urin anzusäuern (Hess, Benjamin, Schröder und Widenbauer) kann, gleichgültig, ob man Salzsäure, Eisessig oder Sulfosalizylsäure nimmt, die Zerstörung des Vitamins verzögern, aber nicht verhindern. Der beste Schutz ist Glutathionzusatz, kombiniert mit starkem Ansäuern durch Sulfosalicylsäure, Urin, der länger als drei Stunden aufbewahrt wird, ist zur Untersuchung nicht mehr geeignet.

Bei einem pH-Wert von etwa 5,0—6,0 erfolgt die Oxydation schneller als bei 4,0 und schneller als ohne Zusatz von Säure. Nach Tauber und Neuweiler hat die Ascorbinsäureoxydase gerade in schwach-sauerem Bereich das Optimum ihrer Wirksamkeit. Der Harn verhält sich so, als wenn in ihm nicht nur eine Ascorbinsäureoxydase vorhanden ist, sondern auch eine Schutz-Substanz gegen diese, genau so, wie Gabbe dieses schon im Blut festgestellt hat. Welcher Art die Schutz-Substanz ist, fragt sich noch; man denkt an eine Thiolverbindung.

Lund und Liek weisen auf sehr komplizierte Bedingungen für die Stabilität der Ascorbinsäure im Urin hin. Diese ist hauptsächlich von dem pH-Gehalt und der Sauerstoffspannung abhängig, und die gesetzmäßige Abhängigkeit zwischen diesen beiden Faktoren ist die wesentlichste Bedingung für die Stabilität. Auch die Phosphat- und Chlorid-Konzentration ist von großem Einfluß. Harnstoff und Kreatin hemmen die Oxydation der Ascorbinsäure in einer wässerigen Phosphatlösung in einem solchen Grade, daß die Stabilität selbst bei schwach-alkalischer Reaktion erhalten bleibt, während Harnstoff und Kreatin selbst bei einem niedrigen pH-Wert die Oxydation der Ascorbinsäure kräftig katalysieren. Die Oxydation geht schon in den Harnwegen vor sich. Da der pH-Gehalt der bedeutendste Faktor in dieser ganzen Frage ist, ist es immer notwendig, eine pH-Bestimmung des Urins durchzuführen und den pH-Gehalt auf etwa 5,0 herabzusetzen nach Lund und Liek.

Im alkalischen Urin ist der C-Gehalt niedriger als in saurem. Nur um 5% und weniger verminderte sich der Vitamin-C-Gehalt im Urin, wenn dieser in einer dunkelbraunen Flasche im Dunkeln aufbewahrt wurde und vorher mit 15 ccm Eisessig versetzt wurde.

Ergebnisse der Ascorbin-Untersuchungen im Urin.

Wie verhalten sich nun die Normalausscheidungswerte der Ascorbinsäure im Urin, die mit Hilfe der geschilderten Methoden bisher gefunden wurden?

Die mittlere Ausscheidung einiger Holländer im Jahre 1938 betrug etwa 15—25 mg Ascorbinsäure (wobei natürlich die Harnreduktone mitgerechnet sind), pro Tag, untersucht nach der Tillmans-Methode, modifiziert von v. Eekelen, Emmerie, Josephy und Wolff bei normaler Kost. (Aus dem hygienischen Institut der Universität in Utrecht.)

Harris fand, daß der C-Gehalt im Harn verschiedener, normaler Personen konstant etwa 30—33 mg (inclusive reduzierende Substanzen) pro Tag betrug bei gewöhnlicher Kost. Bei Verabreichung von etwa 600 ccm Orangensaft stieg der C-Gehalt des Harnes rasch an. Nach drei Stunden war die Ausscheidung gegenüber der Norm auf das 8—10fache erhöht, um schon am nächsten Tag wieder auf 30 mg zurückzusinken. Auch bei C-freier Diät während einer Woche blieb die Ausscheidung konstant. (Kl. Wschr. 1935 I.).

Van Eekelen und Emmerie fanden auch in späteren Versuchen in Übereinstimmung mit Harris und Mitarbeitern eine tägliche Ausscheidung um 30 mg Ascorbinsäure + reduzierende Substanzen bei normaler Ernährung, während Drigalsky mit Hilfe der Jodmethode (nach Ansäuern und Stärkezusatz) bei gesunden Erwachsenen unter Klinikkost täglich Werte von 36—79 mg feststellte. Selbst unwahrscheinliche Mengen von 100—104 mg werden gefunden, ein Hinweis auf die Insuffizienz der Jodmethode.

Jezler und Kapp setzen als Grundlage jeder Vitamin-C-Bilanz die Kenntnis der in 24 Stunden im Harn ausgeschiedenen Ascorbinsäuremenge. Bei 13 gesunden Jünglingen wird bei Vitamin-C-armer Kost 5 Tage lang die tägliche Ausscheidung mittels der Indophenoltitration bestimmt. Es ergaben sich Tagesmengen von 27—42 mg Ascorbinsäure. Beim Übergang von voller Kost zu Vitamin-C-armer sank die Ausscheidungsquote sogleich auf etwa Zweidrittel des normalen Wertes.

Aber auch bei Nahrungskarenz bleibt ein gewisses Reduktionsvermögen des Harns bestehen, das etwa 11 mg pro Tag darstellt und das auf andere reduzierende Substanzen bezogen werden muß. Körperliche Anstrengungen sollen die Ausscheidung vermindern. Nach Vitamin-C-armer Periode beträgt die Ausscheidung etwa die Hälfte gegenüber der der Normalkost-Periode. Die Autoren mei-

nen, daß der rasch erfolgende Sturz gegen das Bestehen großer Reserven spricht.

An der Baseler medizinischen Klinik sind in demselben Jahre in großer Zahl C-Ausscheidungsbestimmungen vorgenommen worden im Urin, die darauf abzielten, eine brauchbare und zugleich einfache Methode zur Erkennung latenter Hypovitaminosen aufzufinden. Auch dort wurde die Ausscheidung pro Tag in Milligramm berechnet, wie das von Harris und v. Eekelen verlangt wurde. Die Titrationen wurden nach Tillmans durchgeführt, und es ergaben sich bei normaler Kost Tagesausscheidungen, die im Durchschnitt zwischen **25 – 54 mg** schwankten, in extremen Fällen zwischen **11 – 94 mg.**

Die Autoren v. Euler und Malmberg fanden bei der Landbevölkerung Nordschwedens einen Durchschnittswert von ca. 5 bis 11 mg Ascorbinsäure im Liter unter normalen Verhältnissen; bei Städtern 25 mg.

Hamel untersuchte mit Hilfe der Methylenblaumethode nach Martini und Bonsignore, verbessert von Wacholder und Podesta, die Tagesausscheidungen bei Studenten und stellte Werte von 1—9,6 mg C pro Tag fest bei volkstümlicher Kost in der Mensa. Bei Personen, die viel Gemüse und Obst aßen (eigener Garten), ergaben sich Tagesausscheidungen von 14—21 mg.

Der Autor gibt dazu an: (Kl. Wschr. 1937 II S. 1105): „Wir können uns nicht damit einverstanden erklären, daß der ohne besondere C-Zufuhr im Urin gefundene Reduktionswert überhaupt nicht auf Ascorbinsäure zu beziehen sei. Die Schlußfolgerung von Wieters, daß der normale Urin überhaupt kein Vitamin-C enthalte, können wir nicht als berechtigt ansehen. Bei der weitgehenden Parallelität der Höhe der C-Zufuhr in der Nahrung und der nach unserem Verfahren gefundenen Reduktionskraft des Urins, halten wir uns für berechtigt, diese auf Vitamin-C zu beziehen."

Diese Behauptung läßt sich nur halten, wenn der Autor von der Vollkommenheit und der Spezifität seiner Methode überzeugt ist; allen jedoch, die diesem Punkte kritisch gegenüberstehen, fehlt der Beweis dafür, daß Vitamin-C die Ursache der Reduktion ist. Bei kleinen Werten, sowie im Hungerzustand, ist es wohl sicher, daß dieses nicht der Fall ist. Nur bei hohen Werten läßt sich jedenfalls mit einiger Sicherheit Vitamin-C im Harn vermuten.

Nach Bozzacchi enthält der Urin gesunder Menschen im Durchschnitt 5,8 mg Ascorbinsäure, weitaus die niedrigste aller bisher überhaupt gefundenen Zahlen.

Aus allem ist zu ersehen, daß die Ergebnisse unglaubliche Differenzen aufweisen und das ganze Gebiet noch derart strittig ist, daß von einem eigentlichen Fortschritt der Chemie auf dem Gebiet der quantitativen C-Bestimmung eigentlich nicht die Rede sein kann.

II.

Bestimmung der Reduktionskraft der Ascorbinsäure im Urin.

Es folgen nun zur Ergänzung einige Versuche nach der Tillmans'schen Titrationsmethode, die die tägliche Urinausscheidung, oder besser C-Konzentration, bei ziemlich Vitamin-C-konstanter Klinikkost und verschiedenen Diätformen bei gesunden und kranken Kindern ermitteln sollen, um etwas über den C-Stoffwechsel in Erfahrung zu bringen, soweit dieses möglich ist bei der Methode mit Dichlorphenolindophenol. Den wenigsten Versuchen bisher lag dieses Ziel zugrunde; die meisten beschäftigten sich mit Vitamin-C-Belastungen als Mittel für diesen Zweck. Auf Belastungsproben und Ergebnisse wird später noch eingegangen.

Außer Reihenversuchen kommen auch Einzelversuche zur Beobachtung, bei denen die Ausscheidungswerte längere Zeit verfolgt werden.

Die Harntitration erfolgte möglichst bald nach der Miktion, da beim Stehen bald Reduktionsverluste auftreten. Es ist auffallend, daß der Verlust durch Oxydation von Fall zu Fall so verschieden ist u. in keinem Verhältnis zu ursprünglich vorhandenen Mengen steht. Auch bei tagelangem Stehen schwindet der Reduktionswert nie ganz, ja er kann sogar durch bakterielle Zersetzung wieder ansteigen. Titriert wurde bei diesen Versuchen bis zum ersten Auftreten eines einige Sekunden bestehenden rosa Farbtones.

Methodik.

Es werden 10 ccm Urin genommen, dazu 0,2 ccm Eisessig und zur Vermeidung einer stärkeren Eigenfarbe mit aqua dest. auf 50 ccm aufgefüllt. Dann wird titriert und der Leerwert von der gefundenen Zahl an gebrauchter Indicatorlösung abgezogen.

Indicator: Die Firma Hoffmann-La Roche, Basel, hat genau dosierte Farbstoffmengen von Dichlorphenolindophenol in Tablettenform hergestellt. Jede Tablette entspricht 1 mg Ascorbinsäure. Das bisher umständliche Verfahren der Indicatorbereitung wird dadurch vereinfacht. Eine vorgeschriebene Anzahl Tabletten, in diesem Falle vier, werden in 200 ccm aqua dest. gelöst. Man erhält in kurzer Zeit eine Farbflüssigkeit von gewünschter Stärke, die allerdings jeden Tag neu hergestellt werden muß. Ein ccm der Indophenollösung entspricht demnach 0,02 mg Ascorbinsäure.

Das bei fieberhaften Erkrankungen, Diabetes und infolge von reichlichem Eiweißgenuß im Urin vermehrt auftretende Thiosulfat wird entfernt durch Zusetzen kleiner Mengen von Bariumacetat in

Tabelle 1.

Reihenversuche.

Nr.	Name	Gewicht	Alter	Konzentration mg% Asc.	mg C Asc.-S.	Urinmenge	Diagnose	Kost
1	Seubert, Ludwig	10,0	2 1/2	1,30	2,47	190 ccm	Drüsenabszeß	Malzsuppe, Aepfel, Ban.
2 a	Benz, Wilhelm	23,1	7 1/2	0,76	0,46	60 ccm	Nephritis	Nierenkost
2 b	Benz, Wilhelm	23,1	7 1/2	0.56	1,56	100 ccm	Nephritis	Nierenkost
3	Rauschmann, Ruth	18,2	7 1/2	0,90	1,26	140 ccm	Cystitis	Infektnhrg., Obst
4	Achstetter, Anneliese	17,9	9	1,00	1,50	150 ccm	Endocarditis	leichte Kost, Obst
5	Wagenbrenner, Alfred	16	4 3/4	0,22	0,29	130 ccm	Endocarditis	leichte, salsarme Kost
6	Kneitz, Katharina	12,9	2 1/2	2,10	2,73	130 ccm	Ekzem	gewöhnliche Kost
7	Blatz, Gerhard	13,1	2 3/4	1,18	1,65	140 ccm	Commotio cerebri	gemischte Kost
8	Klein, Walter	18,5	5 1/2	1,21	1,15	95 ccm	Angina	Infektnhrg., Obst
9	Fetzer, Friedrich	39,6	14	0,14	0,25	175 ccm	Nephritis	Nierenkost
10	Neubauer, Burkhard	19,0	5 1/2	0,18	0,20	110 cem	Nephritis	Nierenkost
11	Hauck, Elfriede	13,7	3 1/2	1,22	1,09	90 ccm	schwere Dyspepsie	fettarme Kost, Zitrone
12	Hirt, Elfriede	13,2	4	1,38	1,04	75 ccm	Impetigo	Infektnhrg., Fruchtsäfte
13	Arauner, Hans W.	18,6	4 1/2	0,78	0,45	60 ccm	Nephritis	Nierenkost
14	Weid, Alfred	14,9	4 1/2	2,68	1,26	75 ccm	Pneumonie	Infektnhrg., Obst
15 a	Schraud, Hermann	16,7	4 1/2	2,07	1,66	80 ccm	Pneumonie	Infektnhrg., Obst
15 b	Schraud, Hermann	16,7	4 1/2	0,26	0,26	100 ccm	Pneumonie	Infektnhrg., Vit. G-frei
16	Baumeister, Hedwig	12,2	2	0,90	0,36	40 ccm	Emphysem	leichte Kost, Zitrone
17	Schlott, Erwin	15,6	3 3/4	2,74	1,37	50 ccm	Angina	Inf.Nhrg., Zitr., Fruchtsäfte

Tabelle 2.

Name	Alter	mg % Asc.	Diagnose	Kost
Löw, Erika	5	0,25	Dyspepsie	Schonkost
Schreck, Therese	9	2,80	Epilepsie	gewöhnl. Kost
Volk, Hannelore	7	0,76	Nephritis	salzarm. reizl.
Grnin, Tillonia	5	1,65	Emphysem	Infektnahrung
Wehner, Sonja	6	2'21	Fieberkrämpfe	reizlose Kost
Arauner, Wolfgang	4 1/1	0,47	Nephrites	Nierenkost
Fischer, Walter	10	0,85	Nephritis	Nierenkost
Wagenbrenner, Manfr.	4 3/4	0,88	Endocarditis	Obst, reizl. Kost

Tabelle 3.

Einzelversuche:

Tag	Achstetter	Hirt	Hauck	Weid
1. Tag vormittags	0,54 mg %	1,38 mg %	0,84 mg %	1,76 mg %
2. Tag vormittags	0,28 mg %	0,97 mg %	1,06 mg %	1,58 mg %
3. Tag vormittags	0,52 mg %	1,09 mg %	1,28 mg %	2,04 mg %
4. Tag vormittags	0,89 mg %	1,24 mg %	2,05 mg %	0,75 mg %

Tabelle 4.

Einzelversuche

(Fal 16 und 15 der Gesamttabelle)

Stunden	Fall 15	Fall 16
1. Stunde	1,50 mg %	0,78 mg %
nach 2 Stunden	1,31 mg %	0,71 mg %
nach 2 Stunden	0,91 mg %	1,09 mg %
nach 2 Stunden	1,22 mg %	1,36 mg %
nach 2 Stunden	0,99 mg %	1,42 mg %

Substanz. Fünf Minuten darnach muß dann der Urin filtriert werden, bevor man mit der Titration beginnt.

Titriert wurde nur eine Harnmenge von 1 bis zu 3 Stunden; keine 24stündigen Harnmengen!

Folgende Fragen treten nun besonders hervor bei der Betrachtung: 1. Wie verhalten sich die Ausscheidungswerte bei Kindern? 2. Bestehen Unterschiede in dieser Hinsicht bei gesunden und kranken Kindern und den verschiedenen Altersstufen? 3. Finden sich Spuren eines C-Mangels, die auf Insuffizienz der Nahrung (besondere Diätformen) hinweisen?

Bei den meisten Krankheitsbildern liegt Fieber vor. Besonderheiten der Ernährung sind in der Tabelle angegeben, sowie auch Diagnosen.

Es ergibt sich, daß die Durchschnittswerte um 0,50 mg% bis 1,50 mg% liegen. Zwischen den Altersstufen und Krankheitsformen bestehen keine besonderen Unterschiede. Die Zahlen sind durchweg niedrig und gehen nicht über 2,80 mg% hinaus. Bei einigen besonders niedrigen Werten muß man annehmen, daß keine Ascorbinsäure im Urin vorhanden war; von welchem Grenzwert ab das der Fall ist, läßt sich bei der unvollkommenen Methodik nicht sagen. Immerhin lassen wohl die meisten Zahlen den Schluß zu, daß Vitamin C im Urin vorhanden ist, und solange dieses der Fall ist, kann von einem C-Vitaminmangel oder „Defizit" nicht die Rede sein, eine Behauptung, auf die ich später noch zurückkomme. Es finden sich keine Vermutungen dafür, daß die in der Klinik üblichen verschiedenen Kostformen zu wenig Vitamin C enthalten. Auch bei Infektionskrankheiten findet man keine deutlichen Beweise. Auffallend niedrig sind die Ausscheidungswerte bei Nephritis, aber wie weit man noch auf das Vorhandensein von Ascorbinsäure schließen darf, ist unsicher, wie schon oben gesagt. Bietet die Nierenkost zu wenig an Vitamin C oder ist das Vorhandensein des Vitamins an intakte Nierenfunktion gebunden?

III.

Über den Vitamin-C-Stoffwechsel:

Der C-Vitaminstoffwechsel des gesunden und kranken Menschen ist völlig gebunden an den Gesamtstoffwechsel. Es können somit aus der Kenntnis des Vitaminverbrauches wieder Rückschlüsse auf die Stoffwechselgeschehen des Körpers gezogen werden.

Widenbauer: „Ich habe die Auffassung vertreten und experimentell an Beispielen gezeigt, daß der Vitamin C-Stoffwechsel des Menschen innig mit dem Gesamtstoffwechsel verknüpft ist, und daß umgekehrt aus Kenntnissen des Vitaminverbrauchs auch wieder Rückschlüsse auf den Gesamtstoffwechsel und auf Vorgänge im Organismus gezogen werden können. Diese theoretischen Vorstellungen sind aber durch experimentelle quantitative Bestimmungen am Menschen noch nicht genügend unterbaut." (Kl. Wschr. 1937. I.)

Über C-Mangelkrankheiten.

Es fehlten eben die Möglichkeiten, um zu beweisen, ob die für eine C-Hypovitaminose suspekten klinischen Symptome auch wirklich die vermutete Ursache besaßen, da sich die Symptome als völ-

lig uncharakteristisch erwiesen, d. h. auch andere Gründe haben konnten nach Lund, Liek und Widenbauer: „Die Personen bei denen ein Defizit festgestellt war, zeigten nicht immer Frühjahrsmüdigkeit, und nicht immer verschwand eine solche nach Zufuhr von Vitamin C." (Kl. Wschr. 1937 I. S. 749.)

Lund und Liek schildern drei Fälle von „manifesten C-Hypovitaminosen" und einen Fall von Skorbut. Die ersten drei Fälle werden als natürliches Zwischenstadium zwischen dem echten Skorbut und der rein latenten Form der Hypotivaminose C betrachtet, die sich nur durch unsichere Allgemeinsymptome und eine herabgesetzte Kapillarresistenz zu erkennen gibt. Die „Manifesten Hypovitaminosen" waren zur Hauptsache charakterisiert durch Blutsuffusionen, Caries, sowie hypochrome Anaemie. Der letzte Fall war noch mit Gingivaschwellungen und Blutungen kombiniert. Es wird hervorgehoben, daß die betreffenden Personen niemals, oder höchst selten im Leben Milch, Obst und Gemüse zu sich genommen hatten. Die Kapillarresistenz war nicht in allen Fällen herabgesetzt, sondern bei dreien normal. Es wurden täglich während drei Wochen 3—4 mg Ascorbinsäure pro Kilogramm Gewicht gebraucht, um die Depots aufzufüllen. — Von anderer Seite (Widenbauer) wird behauptet, daß haemorrhagische Diathese eine durch zusätzliche Momente bedingte Erscheinungsform sei und Zahncaries, Hautblässe und hypochrome Anaemie als allgemeine Zeichen qualitativer und quantitativer Unterernährung gewertet werden müßten. Auch kapilläre Blutungen nach Stauungshyperaemie (Rumpel-Leede) bei Kindern sind für die Diagnose einer C-Hypovitaminose nicht zu verwerten. Man sieht, wie widersprechend die Meinungen sind, und wie selten derartige Fälle zur Beobachtung gelangen, besonders was Hypovitaminosen betrifft, die überhaupt keine typischen Symptome aufweisen. Die dafür suspekten Symptome wie Frühjahrsmüdigkeit, Abgeschlagenheit, Neigung zu Zahnfleischblutungen, Anfälligkeit gegenüber katarrhalischen Erkrankungen und herabgesetzte Leistungsfähigkeit können jedenfalls nicht als sicher gelten. Nach Schröder und Venzmer deuten sie jedoch ganz sicher auf einen C-Mangel, während der Engländer Herlitz nach der Bestimmung des Blutserumtiters bei 100 Kindern, die an Gingivaschwellungen und Blutungen litten, zu dem Schluß kommt, daß die Krankheitserscheinungen nicht das geringste mit dem Vitamin-C-Standard zu tun haben, denn der Ascorbinsäurespiegel war durchweg normal. Die Zugabe von Äpfeln, Bananen und Orangen beeinflußte die Gingivitis-Symptome nicht. (Acta paedicatrica 1938, 15:X.)

Was die Avitaminosen betrifft, so kommen sie zweifellos vor, wenn auch sehr selten in neuerer Zeit. Sie werden geheilt durch

Gaben von C-Vitamin, ein Beweis dafür, daß dessen Mangel die Krankheit verursacht. Warum es nun aber infolge dieses Mangels beim Skorbut zu Gefäßschäden und ausgedehnten Blutungen kommt, ist noch nicht sicher geklärt. Experimentell konnte der Skorbut bisher nicht erzeugt werden. Der Krankheitsbegriff als solcher ist nach Brunn schon lange bekannt. Mangel an frischem Gemüse wurde schon im Jahre 1755 als wichtigste Ursache erkannt. Durch Einführung der Kartoffel wurde die Erkrankung dann verdrängt. Da sie erst nach 4—6 Wochen einsetzt, ist es erklärlich, daß zwischen dem Zustand bester Gesundheit und ausgeprägter Avitaminose eine große Spanne besteht, und daß es schwierig ist, die Hypovitaminose-Zustände sicher abzugrenzen. Nach Jezler und Kapp ist dieses ganz ausgeschlossen. Nach v. Euler besteht der Skorbut in schweren cytologischen Veränderungen des Knochenmarks und verzögerter Erythrocytenbildung, während Mangelzustände durch Brüchigkeit der kleinen Gefäße angedeutet werden. Worms, Willot und Duval schildern einen Skorbut bei einem 36jährigen Manne, der an einer Nebennierenblutung starb. Achille veröffentlicht sieben Fälle von infantilem Skorbut, die aus den Jahren 1930—35 und aus Neapel stammen. Die Symptome bestanden in Blutungen in Augenlidern und Orbita. Moncrieff beschreibt einen Skorbut bei einem 10 Monate alten Knaben, der durch Verabreichung von Apfelsinensaft und 400 mg Ascorbinsäure intravenös zur Heilung kam.

Die Kapillarresistenz, um es noch einmal hervorzuheben, gibt keine Aufschlüsse über den C-Sättigungsgrad des Organismus. Man fand bei vier Fällen von Säuglingsskorbut eine normale Resistenz (Weld). Sie kann auch beim gesunden Menschen verschieden sein. Man fand bei Kindern mit verstärkter C-Ausscheidung viele Petechien, bei Kindern mit verminderter Ausscheidung die wenigsten Petechien. Borsalino und Adant hingegen sahen nach intravenöser Injektion von 100 mg Ascorbinsäure einen steilen Anstieg der Kapillarresistenz, der nach 24 Stunden wieder auf den Ausgangswert herabsank.

Als Mangelkrankheit im Säuglingsalter ist der Säuglingsskorbut bekannt. Nach Ley gibt es neben diesem ausgebildeten Krankheitsbild der C-Avitaminose andere weniger charakteristische Erkrankungen des Säuglings, sogenannte „Nährstörungen" mit unbekannten Symptomen, die auf eine qualitativ unzureichende Ernährung des Säuglings zurückgeführt werden müssen und nicht auf C-Mangelernährung. An welcher Seite der C-Mangel beim Menschen eigentlich angreift, ist noch vollkommen unklar. Es scheint, daß der Mangel sich nicht an einem bestimmten Organ auswirkt, sondern sich im ganzen intermediären Stoffwechsel hemmend bemerkbar macht. (Kl. Wschr. 1937 II S. 1428.) Der Angriffspunkt dürfte,

worauf Bickel bereits für die Vitamine hingewiesen hat, die Zelle selbst sein, die beim C-Mangel ihren physiologischen Aufgaben nicht nachkommen kann. Danach erscheint es selbstverständlich, wenn man beim C-Mangel ein Krankheitsbild sieht, das man mit „Lebensschwäche" bezeichnet. Die Zelle und der gesamte Organismus sind eben zu schwach. „Das Vitamin C ist als Stoffwechselferment im Sinne Escherichs aufzufassen, das dem Organismus erst die Ausnutzung der ihm angebotenen Nahrung ermöglicht, während bei einem Mangel an C die an sich ausreichende Nahrung nicht ausgenutzt werden kann." (Ley).

Über die C-Bilanz des Organismus.

Was aber hat sich bisher an Resultaten ergeben in Bezug auf den täglichen Bedarf des Menschen an Vitamin C und den ausreichenden oder nicht genügenden Versorgungszustand des menschlichen Organismus mit Vitamin-C?

Was die erste wichtige Frage betrifft, so ist man noch zu keinem sicheren Ergebnis gelangt, ebenso was die zweite Frage angeht, obgleich man dafür in der von Harris und Ray eingeführten Belastungsprobe einen allgemein gültigen Test gefunden zu haben glaubte. Aus allem geht hervor, daß man erst im Beginn aller Erkenntnisse in der ganzen Vitaminfrage steht und ein gründlicher Einblick in diese Verhältnisse noch in keiner Richtung vorliegt, trotzdem schon seit Jahren ungeheuer gearbeitet wurde auf diesem Gebiet und die ganze Frage im Mittelpunkt der Interessen steht.

Nach dem Vorschlag von Johnson, Zilva, Harris und Ray belastet man mit synthetischen Ascorbinsäuremengen und nimmt an, daß mit dem ersten steilen Anstieg der Ausscheidung die Sättigung erreicht sei und die ganze, bis dahin nicht ausgeschiedene Menge vom Körper zur Auffüllung von Depots verwandt wurde und somit als „Sättigungsdefizit" zu betrachten sei. Dabei wird also das Sättigungsmaximum als Sättigungsoptimum angesehen und die beiden Begriffe gleichgesetzt. Dieser Weg findet nun großen Anklang bei allen Autoren, die hierin den einzigen Weg sehen, dem Vitaminstoffwechsel und seinen Rätseln näherzukommen.

Baumann und v. Eekelen und viele andere verwerfen die Untersuchung der täglichen Totalausscheidungen, die kein Bild von dem Sättigungsgrad geben sollen, zu Gunsten der Belastungsversuche. Johnson, Zilva und Widenbauer warnen ebenfalls davor, aus der Höhe der normalen Tagesausscheidung auf den Sättigungszustand des Betreffenden zu schließen. Als Methode zur Bestimmung der Vitamin C-Reserven wird die protrahierte Belastung mit täglich 300 mg Ascorbinsäure durchgeführt (Jezler und Kapp). Die Zufuhr wird fortgesetzt, bis mindestens 150 mg im

Tagesharn wieder erscheinen. Die Grenze zwischen normalem und pathologischem Defizit liegt bei einer Verzögerung von 3—4 Tagen. Selbst der Gesunde hat danach ein gewisses Vitamin C-Bedürfnis und kann überschüssig zugeführtes C verwerten, um erst nach einiger Zeit mit einer steilen Mehrausscheidung zu reagieren. — Nach Hamel und Wacholder hat der Mensch einen normalen Sättigungsgrad, der nach oraler Zufuhr von 600 mg synthetischer Ascorbinsäure innerhalb von 24 Stunden mindestens 30%, also 180 mg, wieder ausgeschieden hat. Wird das Angebot erhöht, so werden nach Ansicht der Autoren vor allem die Speicher aufgefüllt, dann erst der erste Überschuß durch den Urin ausgeschieden. — Widenbauer und Kühner fanden bei stillenden Frauen sogar ein „Defizit" von 1500—5700 mg C; Gander und Niederberger ein solches von 1200—3400 mg C bei älteren Leuten (50 Jahre und darüber), und O. Hara und Hauck bei vielen Frauen ein solches von 2200—2800 mg C. Obwohl sich solche „Defizite" von unglaublicher Höhe ergaben, traten keinerlei klinische Symptome einer C-Hypovitaminosis in Erscheinung. Nicht das geringste derartige Anzeichen konnte nachgewiesen werden. Und so kommt denn Baumann zu dem Schluß, daß es im Organismus eine weite Spanne zwischen dem optimalen Sättigungsgrad und einem gewissen starken C-Mangel gibt, eine „physiologische" Spanne, über deren Bedeutung man sich lange nicht klar war. „Und somit ist gesagt, daß nicht jede verminderte C-Ausscheidung des Organismus unmittelbar auf ein C-Defizit der Nahrung oder des Organismus' zurückzuführen ist, sondern daß offenbar in gewissen Fällen der C-Stoffwechsel des Organismus noch von anderen endogenen Momenten wie nur des Angebotes und der Nachfrage bedingt wird." (Baumann). (Zeitschrift für Vitaminforschung.) — Auch Gaehtgens behauptet, daß eine Verzögerung von 4 Tagen als physiologisch angesehen werden muß und auf das Fehlen echter Depots für die Ascorbinsäure im Organismus hinweist.

Nach Baumann stellen „Defizite" von 200 mg noch eine innerhalb der Norm liegende Sättigung dar, ja sogar noch solche von 40 mg pro Kilo, also 3000 mg für eine Menschen von 75 kg. Der Autor stellte fest, daß im Allgemeinen 20% der zugeführten C-Mengen während des Stoffwechsels im Körper verschwinden und im Urin nicht mehr nachgewiesen werden können. Sie werden im Organismus verbrannt. (H. Rietschel).

Bewiesen wurde diese Behauptung durch C-Belastungen, wobei sich zuerst ein Absinken des Reduktionsvermögens des Harns zeigte, dessen Ursache das „Defizit" sein sollte; dann aber auch ein Konzentrationssturz des Ascorbinspiegels im Blut gleichzeitig auftrat, was sowohl von Widenbauer, als auch von Hamel und

Wacholder als Steigerung des C-Verbrauches im Körper durch erhöhte Zufuhr im Sinne einer „spezifisch-dynamischen Wirkung" gedeutet wurde. (Kl. Wschr. 1938 I S. 724.)

Gaehtgens: „Verfolgt man eine derartige „Bilanzkurve", die sich zusammenstellt aus der Gegenüberstellung der täglichen Ausscheidungsmenge an Vitamin C und der Höhe der Aufnahme, über den Tag der plötzlichen Mehrausscheidung hinaus, so kann man feststellen, daß in der größten Anzahl der Fälle die Ausscheidung nach dem ersten Anstieg für einige Tage eine ungefähr gleiche Höhe aufweist, und daß erst später die ganze zugeführte Tagesmenge an Vitamin C ausgeschieden wird". Die Erklärung sehen Wacholder und Hamel in einer „spezifisch-dynamischen Wirkung", die bei hoher Zufuhr von Ascorbinsäure ie Erscheinung tritt und unter Oxydation einen Teil der Ascorbinsäure verbraucht. „Diese spezifisch-dynamische Wirkung" ist aber quantitativ noch zu wenig zu übersehen, spielt aber wohl im C-Stoffwechsel eine große Rolle". (Gaehtgens).

Die beim „Defizit" verschwindenden Mengen wandern also nicht alle in ein Depot, sondern werden unter Oxydation verbraucht und das plötzliche Hochschnellen der Ausscheidung kann man zum Teil auf ein Versagen der Fähigkeit, so hohe C-Mengen zu oxydieren, erklären. Diese läßt nach bei fortgesetzter Belastung mit synthetischer Ascorbinsäure, nachdem sie zuvor einen gewaltigen Antrieb erfuhr durch diese. Dann ist der Organismus auf erhöhte Ausfuhr angewiesen, um den Überschuß abzustoßen. So setzen sich also die im Laufe von Belastungen gefundenen Ergebnisse aus zwei Faktoren zusammen, nämlich dem zusätzlichen Oxydationsverbrauch und aus der Auffüllung der zusätzlichen Depots (im physiologischen Sinn), die Gaehtgens als nicht „echt" bezeichnet, d. h. beständig. Beide Faktoren sind quantitativ nicht voneinander zu trennen.

Über den C-Bedarf des Organismus.

Wenn nun die bei Belastungen von 500 mg Redoxon und mehr täglich resultierende hohe Verbrauchsquote von 50 mg (Szent Györgyi und Stepp) als Bedarf an Vitamin C wirklich stimmen sollte, so müßten bei der unter normalen Verhältnissen viel geringeren Zufuhr von Vitamin C in der täglichen Nahrung Fälle von Hypovitaminosen oder gar Skorbut häufig vorkommen in der Bevölkerung. Zum mindesten aber müßten solche Fälle im Winter und Frühjahr zur klinischen Beobachtung kommen. Nun sind aber die klinischen Symptome dieser Mangelkrankheit derart umstritten, wie vorher erwähnt, daß man eindeutige Fälle in der Literatur selten angegeben findet. Es liegt also ein großer Widerspruch vor. Nach Hamel ist der Tagesbedarf etwas niedriger und beschränkt sich auf 40 mg täglich. Eine Steigerung der Verbrauchswerte ist nach

Hamel zur Hauptsache verursacht durch die spezifisch dynamische Wirkung, analog den Vorgängen bei reichlichem Eiweißgenuß. Aber auch für diese Verbrauchsquote würde wohl die durchschnittliche tägliche Nahrungsmenge nicht ausreichen.

Weiter beweist Hamel, ebenso wie Baumann, daß die Ausschüttung bei hoher Tageszufuhr eine Selbsthilfe des Körpers darstellt, um den nicht verbrauchten Überschuß abzuwerfen. Der Organismus ist also bestrebt, diesen Zustand der Maximalsättigung, von der immer die Rede ist, wieder loszuwerden. (Kl. Wschr. 1937 II S. 1246). Das Sättigungsmaximum ist also nicht das Sättigungsoptimum, die Begriffe sind nicht identisch. Trotz nun folgender Einschränkung erfolgt noch tagelang eine Mehrausscheidung im Urin. Bei langdauernden Belastungen zeigten sich sogar statt Steigerung des Wohlbefindens und der Leistungsfähigkeit Abgeschlagenheit, erhöhtes Schlafbedürfnis und Abnahme der Körperkräfte, eigentlich ein Beweis, daß es sich nicht mehr um einen physiologischen, sondern eher um einen pathologischen Zustand handelt, dem der Körper durch erhöhte Nierentätigkeit begegnet. (Kl. Wschr. 1937 I S. 1105).

Warum sollte aber nicht auch die tägliche Ascorbinsäureausscheidung ohne vorhergehende Belastung eine Selbsthilfe des Körpers darstellen? Wir wissen, daß der Körper über den Nierenweg nur solche Stoffe zur Ausscheidung bringt, die entweder nutzlos oder gar schädlich für ihn sind, also Stoffwechselschlacken, oder solche, die im Übermaß vorhanden sind (wie zum Beispiel im Übermaß genossener Zucker zur alimentären Glykosurie führt). Von beiden Möglichkeiten trifft bisher die letztere für das Vitamin C zu, da man ja objektive klinische Symptome einer Hypovitaminose nicht feststellen konnte. Die einfache und natürliche Folgerung ist daher: Solange im Harn noch Vitamin C gefunden wird, leidet der Organismus keine Not daran, und es besteht kein Mangel an Vitamin C im Stoffwechselprozeß des menschlichen Körpers; sonst würde die Natur sich zu helfen wissen und den wertvollen Stoff einsparen durch Drosselung der Nierentätigkeit hinsichtlich der Ascorbinsäureausscheidung! Die obere Grenze des Bedarfs wäre damit in jedem Falle eindeutig festzustellen, wenn die Methodik nicht gerade beim Nachweis kleinster Mengen von Ascorbinsäure völlig versagte! (Rietschel). Trotz Angabe des hohen Verbrauchswertes von 40 mg wird von Hamel zugegeben, daß der Bedarf des Körpers an C auch abnimmt, wenn man von einer reichlich C-haltigen Ernährung überwechselt zu einer C-ärmeren, ja der Bedarf sinkt nach Hamel sogar noch weiter bei ungenügender Zufuhr. (Kl. Wschr. 1938 I S. 5). Die für die Oxydation benötigten Mengen werden eingeschränkt, und im Urin fehlt selbstverständlich die C-Ausscheidung. „Es findet demnach bei allen Menschen eine

sparende Enaschränkung des Vitaminbedarfs statt, sowie die Zufuhr abnimmt." (Wacholder). „Die Einschränkung des C-Verbrauches bei längerdauernder Mangelernährung stellt zum Teil eine echte Sparmaßnahme dar durch Verbesserung der Rückreduktion und damit Wiederverwendung des Vitamins." (Wacholder). Damit wäre das Rätsel der C-Hypovitaminose, die heute so gefürchtet wird, aber niemals greifbar in Erscheinung tritt, besser erklärt, wenn man sich darüber klar wäre, wie diese Anpassung des Körpers an das wechselnde C-Angebot zustande kme, eine Frage, die später noch erörtert wird.

Die Tatsache der Sparfähigkeit des Körpers hinsichtlich seiner C-Vitaminvorräte erklärt also das fehlende Auftreten von Mangelkrankheiten, wenn man bedenkt, wie C-arm unsere Nahrung in den Winter- und Frühjahrsmonaten besonders für minderbemittelte Volksgenossen ist. Sie liefert vielleicht nicht einmal die Hälfte des von Wacholder und H a m e l angegebenen Minimaltagesbedarfs von 40 mg. Natürlich mangelt auch die Verpflegung in den Kliniken und sonstigen Großbetrieben an Zutaten von Frischgemüsen und Obst in diesen Zeiten. Lediglich Kartoffeln, — auch gelagerte —, und verschiedene Kohlsorten sichern eine gewisse Dauerzufuhr, aber auch nur bei schonender Zubereitung (Vermeiden von Wiederaufwärmen, Schälen und weitgehendem Zerkleinern). — Von Mai bis November ließe sich durch reichlichen Genuß von Gemüse, Beerenobst, Tomaten und Kartoffeln, also mit einheimischen Nahrungsmitteln eine allgemeine Optimalversorgung durchführen, und zwar eine so gute, daß von den C-Vorräten noch bis Januar zugesetzt werden kann, nach W a c h o l d e r. Kritisch bleiben demnach nur die Monate Januar bis Mai, und es fragt sich, ob man für diese Monate die Forderung ohne Schaden auf 20—30 mg herunterdrükken kann. Volkswirtschaftlich gesehen ist es ja von großer Bedeutung, ob man eine tägliche Ernährung mit 20—30 mg oder eine solche mit 40—50 mg C für allgemein erforderlich hält. — (Kl. Wschr. 1937 II S. 1425): L e y sagt zur Bedarfsfrage folgendes: „Sollte nicht die Funktionstätigkeit der Zellen in verschiedenen Organismen eine verschiedene sein, in dem Sinne, daß die Zellen des einen Organismus einer stärkeren Stützung durch Stoffwechselfermente bedürfen, als die Zellen eines anderen Organismus, um dieselbe Arbeit leisten zu können? Daß der C-Gehalt eines Organs mit der funktionellen Beanspruchung ansteigt, konnte ich für das Ovarium mit seinen verschiedenen Funktionszuständen nachweisen. Ich glaube also, daß der Bedarf an C in verschiedenen Organismen ein verschiedener ist, und daß es gelingt, ein funktionsschwaches Organ durch Zufuhr von Vitamin C wieder funktionstüchtig zu machen ist und den Stoffwechsel anzufachen. Die Bedeutung der Ascorbinsäure dürfte dabei in der Richtung zu suchen

sein, daß sie die Oxydationsprozesse im intermediären Stoffwechsel durch Abgabe von Sauerstoff erleichtert und beschleunigt." Der Autor hält also die ganze Bedarfsfrage für individuell bedingt, ein Faktor, der zweifellos eine große Rolle spielt.

Wie kommt aber nun die Anpassung des menschlichen Körpers an die wechselnden Vitamin-C-Verhältnisse der Ernährung zustande?

Es stehen dem Körper bei verringerter, ja sogar bei fehlender Zufuhr anscheinend Schutzvorrichtungen zur Verfügung, die ihm vor dem manifesten Skorbut schützen. Wacholder beweist, daß Personen bei ruhiger Lebensweise auch bei einer Zufuhr von 25 mg C pro Tag im Gleichgewicht bleiben, ohne daß sich hypovitaminotische Störungen bemerkbar machen. Die Nieren sezernieren dann keine Ascorbinsäure und der Blutspiegel ist erniedrigt.

Bevor ich weiter auf die Frage eingehe, ist noch zu sagen, daß der Bedarf an Vitamin C sich nicht so sehr nach den Körpervorräten, die sich besonders in der Leber und in der Nebenniere vorfinden, richtet, sondern zur Hauptsache nach dem Umsatz beim Stoffwechsel, wie er der dynamischen Funktion des Vitamins als Katalysator entspricht. Der Organismus schaltet die Ascorbinsäure in den Stoffwechsel ein, je nach dem Grade des physiologischen Bedarfs. Die Lebensvorgänge im Körper rechnen mit einer ihnen angepaßten Ascorbinsäuremenge, die dem Stoffwechsel entspricht und stets variabel bleibt. Sie ist abhängig von Faktoren wie Ruhe, Arbeit, Alter, Jahreszeit und Funktion der innersekretorischen Organe (Gaehtgens). Selbsverständlich sind auch die Hauptnahrungsstoffe von großem Einfluß auf den Stoffwechsel. Diese können den Bedarf an C also mitbestimmen, aber nicht nur sie, sondern auch akzessorische Nährstoffe sind von Bedeutung in ihrem Einfluß auf den Bedarf. Die Zufuhr des C-Vitamins bestimmt wiederum die Menge der übrigen Vitamine. Diese Korrelationen können sich bei pathologischen Zuständen ändern. Daraus ergibt sich, daß die C-Bilanz stets schwankt und nicht stabilisiert werden kann. Eine Abnahme des Verbrauches ist stets verbunden mit einer Abnahme der Oxydationsfähigkeit. Auch nach Gaehtgens besitzt der Organismus eine sparende Einschränkungsfähigkeit, die in der Vitamin-C-armen Jahreszeit besonders wertvoll ist und ein „Defizit" in Form von schädlichen Mangelzuständen vermeidet. Dennoch werden die Stoffwechselvorgänge aufrecht erhalten. Wie weit geht nun diese Sparfähigkeit, ohne daß die Bilanz aus dem Gleichgewicht kommt und der Umsatz ungenügend wird?

Alle diese Fragen erklären sich nach Rietschel durch die Tatsache, daß der Organismus fähig ist, das durch Oxydation abgebaute Vitamin C wieder in die Ursprungsform zurückzureduzieren, um es von neuem zu verwenden als

Katalysator. Danach ist ein Teil der Synthese möglich, während die völlige Synthese des Vitamins nach Bezssonoff und Röhmer heute wenig vertreten wird. Diese Fähigkeit der Rückreduktion schützt also den Organismus während der Mangelernährung vor den Folgen des Vitaminmangels und paßt ihn dem wechselnden Angebot an. Sie setzt erst in der Zeit des Vitaminmangels in vollem Umfang ein. Je geringer die Zufuhr, umso umfangreicher also die Resynthese. Auch in den Arbeiten von Szent Györgyi und Wacholder wird auf die Resynthese hingewiesen, während Rietschel sie neuerdings als das wichtigste Moment in der ganzen Bedarfsfrage und damit im C-Stoffwechsel herausstellt. Darum wird verständlich, warum der Organismus selten oder niemals Schaden erleidet in der Versorgung mit Vitamin C, und warum es keinen Skorbut mehr gibt in unserer Zeit, in der die Ernährungsfrage vielmehr Beachtung findet hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Reichhaltigkeit im Sinne der Volksgesundheit, als in früheren Zeiten, da man weder Kartoffeln noch Tomaten kannte, und auch das frische Gemüse nicht so populär war.

Ähnliche Resynthesen finden statt mit den Eisenvorräten des Körpers, die aus der Nahrung nur unvollkommen ergänzt werden. Auch die Milchsäurebildung im Muskel ist an ähnliche Vorgänge gebunden. Um zum Schluß noch einmal auf die Bedeutung der Ascorbinsäureausscheidung im Harn für den C-Stoffwechsel einzugehen, müssen auch die Beziehungen zum Blutspiegel berührt werden. Im Blutplasma ist stets Ascorbinsäure nachweisbar; wie weit aber die erhaltenen Reduktionswerte ausschließlich auf Ascorbinsäure zurückzuführen sind, ob im Blut noch andere, vorläufig noch unbekannte reduzierende Substanzen vorkommen, ist noch nicht entschieden. (Wahren).

Über den Ascorbinsäurespiegel des Blutes.

Der Ascorbinsäuregehalt des Blutes ist abhängig von den Körpervorräten. Nach Baumann setzt die Sekretion durch die Nieren erst ein, wenn die Blutwerte zwischen 1,0—1,4 mg% liegen. Als Schwellenwert wird die Menge von 1,4 mg% betrachtet. Die Ascorbinsäure tritt im frisch gelassenen Harn zum größten Teil in der reduzierten Form auf. Anders jedoch im Blut. Hier findet sie sich fast ausschließlich in der reversibel oxydierten Form vor. Die Umwandlung der Dehydroascorbinsäure in die Ursprungsform muß als eine aktive sekretorische Leistung der Niere angesehen werden.

Für die Bedeutung der Blut- und Nierenschranke ergibt sich folgendes: Sinken die Blutwerte unter 1,0—1,4 mg%, so hört die Urinausscheidung ganz auf. Baumann unterscheidet zwischen Sättigungswerten im Blut von 0,45 mg% bis 2,45 mg%.

An Hand von 30 Bestimmungen des C-Gehalts im Blut wird unterschieden zwischen Blutwerten von über 1,4 mg% als sehr gut gesättigt, Werten von 1,4—0,8 mg% als weniger gut gesättigt und solche von nur 0,45 mg% herum als schlecht gesättigt.

Ganz ähnlich sind die Befunde von Lund, nach denen jedoch der Schwellenwert der Niere individuell schwankt, und daher stets der Serumascorbinsäuretiter die Grundlage der Beurteilung darstellt. Es wird betont, daß nur der Nüchternblutspiegel zur Beurteilung in Frage kommt, da ja nur in diesem Falle ein Ausgleich zwischen Blut und Geweben bis zu einem gewissen Gleichgewicht erfolgt ist. Darum kann auch der C-Gehalt des Blutes weitgehend Aufschluß geben über die C-Versorgung des Gesamtorganismus'. Es findet im Gewebe ja ganz nach Bedarf des Stoffwechsels eine Auffüllung durch das Blut statt. Der Überschuß bleibt im Blut vorhanden und stellt zum Teil die Reserve dar, die aber sofort verloren geht, wenn der Schwellenwert erreicht wird und die Urinausscheidung einsetzt, welche bei fortgesetzter Zufuhr große Werte erreichen kann. In diesem Falle scheint sich jedoch der Organismus dem erhöhten Angebot anpassen zu könen, indem seine Speicherungsfähigkeit sich vorübergehend steigert bis zu einer unbekannten Grenze. Der Verbrauch durch den Stoffwechsel wächst gleichfalls (spezifisch dynamische Wirkung). Das wird eben an den Belastungsversuchen deutlich. Trotz großer C-Zugaben bleiben die ersten Harnwerte konstant und steigern sich erst nach einigen Tagen. Dieses „Sättigungsdefizit", ehemals als Zeichen einer Hypovitaminose angesehen, wird heute von Baumann, Gaehtgens und Rietschel als physiologisch betrachtet im Sinne einer zusätzlichen Speicherungsfähigkeit der Gewebe. „Wollte man diese Retention als echtes Defizit und damit den Zustand der untersuchten Personen als hypovitaminotisch betrachten, dann wäre der größte Teil der Menschheit hypovitaminotisch, auch solche, die sich subjektiv und objektiv bester Gesundheit erfreuen." (Gaehtgens). „Es spricht dieses „Defizit" für das Fehlen langdauernder Reserven im Organismus." (Gaethgens). Fieberhafte Erkrankungen und körperliche Anstrengungen können das „Defizit" von sich aus wohl verändern, aber auch in diesen Fällen kommt es nicht zur Vitaminverarmung. Erst wenn die Grenzen aller Speicher überschritten sind, kommt es zu einer gewaltigen Ausschwemmung im Harn, ein Zustand, der am besten mit „Übersättigung" bezeichnet wird, anstatt wie früher mit „Normalsättigung", und der als unphysiologisch anzusehen ist. Er zeigt keine ausgesprochenen Symptome, sodaß man klinisch nicht von einer Hypervitaminose sprechen kann. Bei natürlicher Ernährung kommt es wohl kaum zu einer solchen Überschwemmung mit Ascorbinsäure. Solange also der Körper noch Ascorbinsäure ausscheidet, kann von einer C-Vitaminverarmung im Organismus nicht die Rede sein, wie Rietschel neuerdings mit Recht betont. Es

werden durch die Nieren niemals Stoffe ausgeschieden, die gerade vom Körper notwendig gebraucht werden. Warum diese so natürliche Schlußfolgerung so lange umgangen wurde, ist nicht einzusehen.

Es ist also nicht so, wie Wacholder sagt: „Die Nierenschwelle ist so niedrig, daß die Niere nicht nur bei der zur Aufrechterhaltung einer vollen Sättigung des Körpers erforderlichen Blutkonzentration noch „undicht" ist, sondern in geringem Maße auch noch, so lange die Konzentration den Wert 0,6% nicht überschreitet, bei welchem sich bedrohlich hohe Hypovitaminosen entwickeln können. Erst wenn sie unter diesen Wert zu sinken droht, wird die Ausscheidung ganz eingespart. Diese Grundausscheidung wird auf die Verbrauchsziffer aufgeschlagen und beträgt 10 mg%." Wacholder hält also die Nierenschwelle für niedriger als Baumann und bekämpft somit durch geeignete C-Medikation die „Undichtigkeit der Nieren", die seiner Meinung nach dem Körper gefährlich werden muß. Es gibt aber nichts vollkommeneres als die Regulationen der Natur! (Kl. Wschr. 1937 II S. 1740).

Ähnlich heißt es später wieder: „Daß der Körper bei einem Überangebot an C die verschiedensten Mittel in Bewegung setzt, um den Überschuß auf alle Fälle wieder loszuwerden, zeigt, daß ein geringes Zuviel von diesem hochaktiven Stoff für ihn viel gefährlicher ist, als ein geringes Zuwenig. Infolgedessen nimmt er zur Sicherung einer die größere Gefahr vermeidenden guten Ausscheidung durch die Niere lieber eine gewisse „Undichtigkeit" derselben, auch bei normalem Angebot und damit eine Erhöhung des normalen täglichen Bedarfs mit in Kauf."

Wacholder führt dann weiter aus, daß der Körper offenbar bemüht ist, bei Belastungen durch diese übersteigende Großausscheidungen und gesteigerte Oxydation wieder herunterzukommen auf normale Höhe, aber daraus ergibt sich nun für den Autor die umgekehrte, und darum unverständliche Konsequenz, in allen normalen und pathologischen Fällen therapeutisch über das normale Sättigungsoptimum hinaus fortlaufend so hohe Dosen Ascorbinsäure zu geben, so daß durch deren spezifisch dynamische Wirkung die erhöhte Verbrauchsnotwendigkeit gedeckt werden kann. Bei fieberhaften Infektionen schlägt der Autor über 250 mg pro Tag vor, da von „verzettelten Dosen" von 100 mg keine durchschlagende Wirkung zu erwarten sei!

Auch beim Fehlen des Vitamins im Harn ist die Gefahr der Verarmung noch nicht unmittelbar vorhanden. Der Minimalbedarf an C ist noch unbekannt, aber man kann wohl annehmen, daß es sich

um geringe Mengen handelt, aus dem seltenen Auftreten des Skorbuts zu schließen. So erweisen sich also einseitige Belastungsversuche als völlig nutzlos, um die Frage des C-Vitaminbedarfs zu erfassen und zu ergründen. Eher bieten noch die Untersuchungen der Normalausscheidung die Möglichkeit, der Frage des Bedarfs an Vitamin C näherzukommen, wenn in Zukunft eine sichere Methode gefunden wird, die eindeutige Schlüsse zuläßt auf die C-Bilanz des menschlichen Organismus.

Schrifttum.

Sonderabdruck aus E. Mercks Jahresbericht 1935.
Sonderabdruck aus E. Mercks Jahresbericht 1937.
Jahrbuch für Kinderheilkunde 146. S. 297.
Jahrbuch für Kinderheilkunde 150. S. 193.
Klinische Wochenschrift 1934 I S. 564.
Klinische Wochenschrift 1934 II S. 1389.
Klinische Wochenschrift 1935 I S. 484, 338, 542, 613, 614.
Klinische Wochenschrift 1935 II S. 1364.
Klinische Wochenschrift 1936 I S. 856, 854, 85, 710, 94, 348, 293, 815, 593.
Klinische Wochenschrift 1936 II S. 976, 1158.
Klinische Wochenschrift 1937 I S. 748, 600, 555, 10, 308, 347.
Klinische Wochenschrift 1937 II S. 1425, 1107, 1246, 1740, 1085, 1217.
Klinische Wochenschrift 1938 I S. 5, 879, 724, 486.
Zeitschrift für Vitaminforschung 1935 Bd. 4 und 6.
Bd. 4: S. 128, 354.
Bd. 6: S. 1, 150, 75.

Lebenslauf.

Ich, Edith Augustin, wurde als Tochter des Oberregierungsrates z. D. Max Augustin am 4. VI. 1912 in Bergedorf bei Hamburg geboren. — Ein Jahr besuchte ich das Bergedorfer Lyceum für Mädchen, die Luisenschule, dann neun Jahre die Realschule für Mädchen von Mittell und Redlich in Hamburg und schließlich drei Jahre die Klosterschule zu St. Johannis, Realgymnasium für Mädchen, in Hamburg, wo ich am 9. Februar 1932 die Reifeprüfung bestand. Ich entschied mich für das medizinische Studium und begann zu Ostern 1932 mit demselben. Fünf Semester studierte ich im ganzen in Hamburg, zwei Semester in Würzburg, ein Semester in München, zwei Semester in Heidelberg und ein Semester in Freiburg i. Br. Im Sommer 1934 legte ich das Physikum ab in Würzburg und bestand auch dort am 9. Juli 1938 das medizinische Staatsexamen mit „gut". Seit August 1938 bin ich Medizinalpraktikantin an der Würzburger Universitäts-Kinderklinik, wo ich mir auch die Doktor-Arbeit geben ließ von dem Chef der Kinderklinik, Professor H. Rietschel. — Jetzt möchte ich um Zulassung zur Promotion bitten.

Herrn Professor Dr. H. Rietschel möchte ich auch an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Themas und die mir gegebenen Anregungen danken.

Ich versichere ehrenwörtlich, die Arbeit allein und selbständig gemacht zu haben. Als Hilfsmittel habe ich nur die angeführte Literatur benutzt.

Edith Augustin.